

## ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ ПРИ РАКЕ ЯИЧНИКОВ

Проф. А. А. МИХАНОВСКИЙ, Ю. В. ХАРЧЕНКО, канд. мед. наук О. В. ДОЛГАЯ,  
канд. мед. наук И. Н. КРУГОВАЯ, Н. В. ФЕДОРЕНКО, Н. Н. ЩИТ, М. А. ТЕПЛОВА

ГУ «Институт медицинской радиологии им. С. П. Григорьева НАМН Украины», Харьков, Украина

**Представлены результаты исследований молекулярно-биологических маркеров p53, Bcl2, Ki-67, VEGF, изучение которых дает ценную информацию о развитии рака яичников, агрессивности его течения и эффективности лекарственной терапии.**

*Ключевые слова: рак яичников, молекулярно-биологические маркеры, апоптоз, пролиферация, ангиогенез.*

Проблема рака яичников (РЯ) является одним из наиболее актуальных и трудных разделов клинической онкологии. РЯ составляет около 30% всех злокачественных гинекологических заболеваний и при этом является причиной почти половины всех летальных исходов среди них. По данным Международного агентства по изучению рака, ежегодно в мире регистрируется более 192 тыс. новых случаев РЯ и более 114 тыс. женщин умирают от этой онкологической патологии, стандартный показатель смертности составляет соответственно 7,3 тыс. на 100 тыс. [1].

В Украине заболеваемость РЯ составляет 16,4 случаев на 100 тыс. населения, а смертность — 9,8 на 100 тыс. [2].

По сводным данным популяционных раковых регистров стран Европы, однолетняя выживаемость больных РЯ составляет 63%, трехлетняя — 41%, пятилетняя — 35%.

Причиной высокой смертности больных со злокачественными опухолями яичников служит бессимптомное течение заболевания на ранних стадиях, что приводит к позднему обращению к врачу и, следовательно, распознаванию заболевания на поздних стадиях [3, 4].

Сегодня успехи молекулярно-генетических исследований в онкологии позволяют рассматривать злокачественное новообразование как болезнь, которая характеризуется клональной эволюцией трансформированных клеток в ткани органа. Важность лабораторных методов диагностики рака не подлежит сомнению, поскольку в 10–20% случаев при биопсии не удается получить материал, содержащий опухолевые клетки, при наличии злокачественной опухоли.

В настоящее время известно, что в основе злокачественных новообразований (в том числе и РЯ) лежат повреждения генетического аппарата в герминальной (половой) и соматической клетках, делающие эти клетки чувствительными к воздействию внешнесредовых канцерогенных факторов, способных запустить процесс малигнизации. В зависимости от того, в какой клетке — половой или соматической — произошла первоначальная

мутация, рак может быть наследственным или спорадическим [5]. Известно более 100 белков и/или генов, изменения которых находят в злокачественных клетках. Каждая опухоль является уникальной по набору нарушений, вовлеченных в процессы канцерогенеза. Такие нарушения, определяемые в опухолевой ткани, и получили название молекулярно-биологических маркеров (МБМ) опухоли.

На основании данных литературы можно предложить следующее определение: МБМ опухолей — это определенные хромосомные и генные мутации, а также экспрессии различных молекул, подвергающихся качественным или количественным специфическим изменениям в опухоли и участвующих в развитии и прогрессии злокачественных заболеваний. Необходимо отметить, что МБМ подразделяются на сывороточные (выявляемые в сыворотке крови) и тканевые, обнаруживаемые непосредственно в клетках опухолевой ткани. К сывороточным опухолевым маркерам (ОМ) относят антигены — метаболиты, ферменты, гормоны, цитокератины и другие опухолевые специфические и ассоциированные с опухолью маркеры, к тканевым ОМ — онкогены, протоонкогены, различные факторы роста и их рецепторы, супрессорные гены и продукты их экспрессии, протеазы, интегрины и др.

Следует подчеркнуть, что все МБМ, в отличие от остальных опухолевых маркеров, участвуют в функционировании нормальных клеток организма и являются прямыми участниками канцерогенеза.

Существуют два основных лабораторных метода диагностики злокачественных новообразований. Молекулярно-генетический метод основан на определении мутантных генов и их РНК продуктов. Многочисленные мутации в генах приводят к синтезу целого ряда не свойственных взрослому организму белков, а также белков, характерных для эмбрионального периода развития. Полимеразная цепная реакция мутантных генов в ДНК плазмы человека позволяет выявить опухоль еще в доклинической стадии. Иммунохимический метод

основан на выявлении ОМ (твердофазный иммуноферментный анализ, моноклональные антитела / гибридная технология, «сендвич»-иммуноанализ с двумя антителами и др.). Чувствительность иммунохимических методов в тысячи раз меньше, чем молекулярно-генетических, и диагностическое значение они имеют уже при сформировавшихся опухолях.

Определение МБМ в ткани опухоли может давать дополнительную информацию о биологическом поведении опухоли: о скорости ее роста, способности к метастазированию и инвазии, устойчивости к химиопрепаратам.

В настоящее время большое внимание уделяется изучению маркеров, характеризующих апоптоз, пролиферацию клетки и ангиогенез. К ним относят белки p53, Bcl-2, Ki-67 и VEGF [6].

Ген p53 является одним из наиболее изученных представителей группы генов-супрессоров опухолевого роста, получившим символическое название «хранитель генома». Ген p53 содержится в коротком плече 17-й хромосомы (17q13) и кодирует фактор транскрипции, который обеспечивает продукцию и функционирование белков, контролирующих клеточное деление, репарацию ДНК и апоптоз. Нарушение функции p53 приводит к утрате супрессивных свойств и стимулирует опухолевый процесс [7, 8]. Активность p53 требуется для некоторых форм апоптоза, и его мутации ассоциированы с агрессивностью течения заболевания и устойчивостью опухолевых клеток к химио- или лучевой терапии. Кроме того, он может участвовать в блокировке клеточной дифференцировки, стимулируя ангиогенез и увеличивая тем самым инвазивные свойства клетки.

Образование мутантного p53 – самое частое генетическое нарушение при развитии злокачественных опухолей. При мутации p53 клетки вынуждены входить в клеточный цикл с поврежденной и нерепарированной ДНК, поэтому их деление становится неуправляемым процессом [9]. В норме белок p53, кодируемый одноименным геном, живет приблизительно 20 мин, так как быстро

деградирует в протеосомах и поэтому в клетках большинства тканей находится на пороге детекции. Мутантный p53 (mtp53) существует от нескольких часов до нескольких дней и накапливается в ядрах опухолевых клеток [10].

По данным разных исследователей, mtp53 обнаруживается у 44–64% больных [11]. Экспрессия p53 значительно выше при прогрессирующем раке яичников (III–IV ст.), чем при I–II ст. (23 и 57% соответственно) [12].

Можно сделать вывод, что мутации p53 нарастают при развитии болезни или имеет место отбор p53+ опухолевых клеток, обеспечивающих агрессивное течение болезни, несмотря на проведение химиотерапии и других лечебных мероприятий.

Установлено, что экспрессия p53 имеет различные значения в зависимости от гистологической структуры опухоли и наблюдается при серозной цистаденокарциноме (СЦАК) – 57,9%, реже отмечается при эндометриоидной цистаденокарциноме (ЭЦАК) – 25,6% и практически не обнаруживается при муцинозных (МЦАК) опухолях (рис. 1) [13].

Противоречивыми являются сведения о соотношении экспрессии p53 и степени дифференцировки РЯ. Одни авторы указывают, что экспрессия p53 коррелирует с низкой дифференцировкой опухоли, другие отрицают ее. Нет единого мнения о роли экспрессии p53 в получении результатов химиотерапии. Некоторые исследователи отмечают корреляцию между экспрессией p53 и ответом на химиотерапию с использованием платиносодержащих режимов, другие работы отрицают ее при лечении паклитакселом.

На наш взгляд, причиной расхождения является отсутствие многофакторного анализа результатов и незначительное число наблюдений в исследуемых группах.

Однако в литературе встречаются несколько методологически точных исследований. При лечении больных с умереннодифференцированной СЦАК III ст. после оптимальной циторедукции и 6 циклов цисплатина с циклофосфамидом

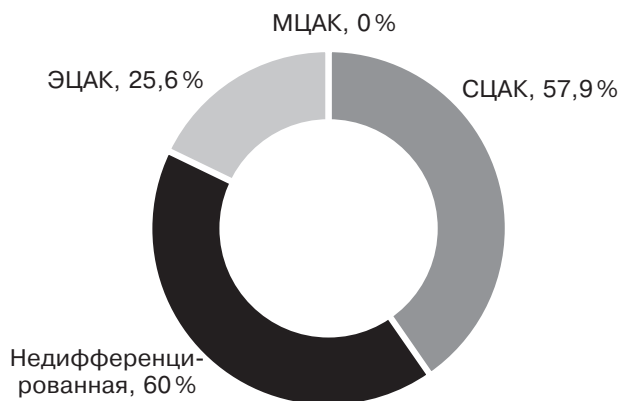


Рис. 1. Соотношение экспрессии гена p53 с гистологическим типом опухоли

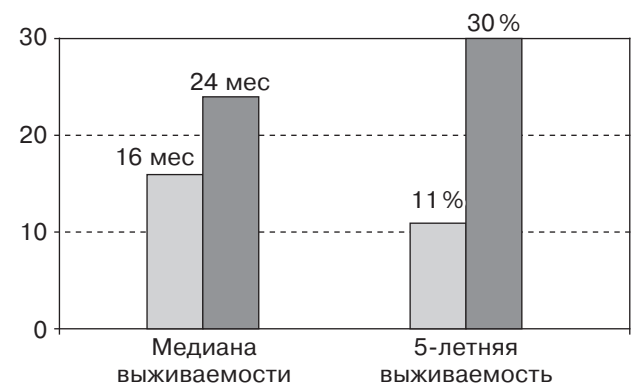


Рис. 2. Экспрессия p53 и выживаемость больных раком яичников, получивших цисплатин и циклофосфамид: □ – p53+; ■ – p53–

показано, что экспрессия *mp53* коррелировала с выживаемостью. В группе *p53*<sup>-</sup> средняя выживаемость составила 117 мес и 44 мес в группе *p53*<sup>+</sup> ( $p = 0,029$ ). В другом исследовании у 187 больных, получивших цисплатин с циклофосфамидом, подтверждено ухудшение прогноза при гиперэкспрессии *p53*. Медиана выживаемости составила 16 мес в группе *p53*<sup>+</sup> и 24 мес в группе *p53*<sup>-</sup>, пятилетняя выживаемость — 11 и 30% соответственно (рис. 2) [14].

Таким образом, экспрессия *p53* в опухолевой ткани может служить маркером прогнозирования выживаемости больных и резистентности к адъювантной терапии. Накопленный материал позволяет сделать вывод о необходимости строгого сопоставления локализации и характера мутаций *p53* с каждым из клинических и морфологических параметров отдельно и путем мультивариантного анализа.

В условиях небольшого обзора трудно дать полную информацию о возможности использования *p53*-тестов в клинической практике, так как данный ген занимает первое место среди маркеров, исследуемых практически при всех онкозаболеваниях и в самых различных целях. Не подлежит сомнению, что *p53*-тестирование имеет диагностическую ценность и требует дальнейшего развития.

Белки семейства *Bcl* (*Bcl-2* и *Bax*) играют ключевую роль в регуляции апоптоза, который они индуцируют или ингибируют. При РЯ экспрессия *Bcl-2* отмечена у 33–50% больных. *Bcl-2* может полностью задерживать апоптоз, вызванный *p53* и другими стимуляторами, в том числе цитостатическими препаратами. *Bax*, в свою очередь, активизирует апоптоз и является антагонистом *Bcl-2*. При образовании комплекса *Bcl-2/Bax* первый теряет свою ингибирующую активность.

Наиболее высокая экспрессия *Bcl-2* выявлена при эндометриоидном типе РЯ (80%). Это сочетается с указанной прежде низкой экспрессией *p53*. Установлена также обратная зависимость между экспрессией *Bcl-2* и накоплением в клетках *p53*. При отсутствии или редкой экспрессии *p53* найдена частая экспрессия *Bcl-2* в этих тканях. В настоящее время одновременное тестирование *Bcl-2* и *p53* успешно используется в качестве прогностического маркера при РЯ [14].

Большинство ученых сходятся во мнении, что экспрессия *Bcl-2* не является прогностическим фактором эффективности химиотерапии при РЯ. Однако другие предполагают, что устойчивость опухолей к химиотерапии, запускающей апоптоз, в немалой степени обусловлена высоким уровнем продукции белка *Bcl-2*. Только в единичных публикациях показана взаимосвязь между экспрессией *Bcl-2* и платиносодержащими препаратами. Так, при исследовании цисплатин заметно снижает уровень продукции *Bcl-2* в дозозависимом режиме [15].

При совместном анализе экспрессии двух белков с *p53* было показано, что наилучший прогноз

при РЯ имеют больные с *p53*<sup>-</sup>, *Bcl-2*<sup>+</sup>, *Bax*<sup>+</sup> и малой остаточной опухолью.

Одним из МБМ, характеризующих биологические свойства злокачественных образований, является так называемая пролиферативная активность (ПА) опухоли, о которой можно судить путем определения степени экспрессии негистонного белка (*Ki-67*). Его экспрессия при РЯ выявлена в 98% случаев.

Установлена корреляция между количеством клеток, экспрессирующих *Ki-67*, и степенью злокачественности опухоли. Пациенты, опухоли которых экспрессируют *Ki-67* более чем в 20% клеток, имеют высокий риск развития рецидива заболевания.

Прролиферативный индекс *Ki-67* при разных гистологических формах РЯ неодинаков. Установлено, что наиболее высокая пролиферация *Ki-67* в серозных карциномах — 20,1%, ниже в эндометриоидных — 12,2% и особенно низкая при муцинозных карциномах — 5,7% [14]. Имеются данные о самой низкой выживаемости больных при высоком индексе *Ki-67* в ткани СЦАК.

Хотелось бы отметить, что нет достаточной информации о значении индекса *Ki-67* для прогноза лечебного эффекта и выживаемости, что обуславливает необходимость дальнейших исследований в этой области.

Особый интерес вызывает изучение маркеров опухолевого роста при РЯ. Неоангиогенез, или формирование новых микрососудов на основе уже существующей в ткани сети сосудов, является необходимым для роста опухоли и развития метастазов. Эндотелиальный фактор роста (VEGF) представляет собой главный фактор, индуцирующий образование новых сосудов в опухоли путем стимулирования деления и миграции эндотелиальных клеток близлежащих сосудов. Экспрессия VEGF в злокачественных опухолях сочетается с усилением ее метастатической активности и укорочением безрецидивной выживаемости.

Установлено, что VEGF содержится в опухоли у 97% больных РЯ, при этом у 56% больных экспрессия VEGF оценивается как выраженная. Имеется прямая корреляция между частотой экспрессии VEGF и стадией болезни (I–II ст. — 13,5%, III ст. — 41,4%) [16]. Не выявлено существенных различий экспрессии VEGF в зависимости от гистологического типа опухоли.

Степень экспрессии VEGF имеет значение для прогноза выживаемости больных РЯ. Худшую выживаемость имеют больные с VEGF<sup>++</sup> по сравнению с VEGF<sup>+</sup>. Сообщается, что его значение в первичной опухоли и метастазах неодинаково. Установлено, что выживаемость в группе больных значительно ниже при увеличенной экспрессии VEGF в метастазах, чем в группе пациенток, не имевших различий данного показателя в первичной опухоли и метастазах [17].

В специальной литературе встречаются единичные публикации, посвященные клиническому

значению этих маркеров у больных РЯ [18, 19]. МБМ — p53, Bcl-2, Ki-67 и VEGF — играют важную роль в развитии болезни, могут влиять на результаты лечения и выживаемости. Между тем

комплексное изучение маркеров апоптоза, пролиферации и ангиогенеза пока не проведено, что обосновывает научно-практическую целесообразность и перспективы данных работ.

#### Список литературы

1. Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ в 2004 г.; под ред. М. И. Давыдова, Е. М. Аксель // Вестн. Рос. онкол. науч. центра им. Н. Н. Блохина РАМН.— 2006. — Т. 17, № 3 (прил. 1).— 132 с.
2. Федоренко З. П. Бюлетень Національного канцерреєстру України / З. П. Федоренко.— К., 2011.— № 12.— 61 с.
3. Жордания К. И. Злокачественные эпителиальные опухоли яичников / К. И. Жордания // Современная онкология.— 2000.— Т. 2, № 2.— С. 14–22.
4. Нечаева И. Д. Опухоли яичников / И. Д. Нечаева.— М.: Медицина, 1987.— 215 с.
5. Новак О. Є. Спадковий фактор і біологічні особливості пухлинного росту у хворих на рак яєчника: автореф. дис. на здобуття наукового ступеня канд. мед. наук; спец. 14.01.07 «Онкологія» / О. Є. Новак.— К., 2004.— 20 с.
6. Барышников А. Ю. Програмируемая клеточная смерть (апоптоз) / А. Ю. Барышников, Ю. В. Шишкин // Рос. онкол. журн.— 1996.— № 1.— С. 58–61.
7. Копнин Б. П. Опухолевые супрессоры и мутаторные гены / Б. П. Копнин // Канцерогенез; под ред. Д. Г. Заридзе.— М.: Научный мир, 2000.— С. 75–91.
8. Levine A. J. The p53 tumor suppressor gene / A. J. Levine, J. Momand, C. A. Finley // Nature.— 1991.— Vol. 351.— P. 453–456.
9. Копнин Б. П. Мишени действия онкогенов и опухолевых супрессоров: ключ к пониманию базовых механизмов канцерогенеза / Б. П. Копнин // Биохимия.— 2000.— Т. 65, № 1.— С. 5–33.
10. Введение в молекулярную биологию канцерогенеза: учеб. пособие / А. А. Новик [и др.]; под ред. Ю. Л. Шевченко.— М.: ГЭОТАР-МЕД, 2004.— 224 с.
11. Spontaneous apoptosis in ovarian carcinomas a positive association with p53 gene mutation is dependent on growth traction / J. Kupryjanezyk, A. Dansonka-Mieszkowska, T. Szymanska [et al.] // Dr. J. Cancer (Scotland).— 2000.— Vol. 82.— P. 579–583.
12. p53 overexpression is associated with cytoreduction and response to chemotherapy in ovarian cancer / G. Ferrandina, A. Fagotti, M. Salerno [et al.] // Br. J. Cancer.— 1999.— Vol. 81.— P. 733–740.
13. p53 overexpression is Not an independent prognostic factor for patients with primary ovarian epithelial cancer / G. Eltabbakh, J. Belison, A. Kennedy [et al.] // Cancer.— 1997.— Vol. 80, № 5.— P. 892–898.
14. p53 in epithelial ovarian carcinoma: their value as prognostic indicator at median follow-up of 60 months / J. Geisler, H. Geisler, G. Miller [et al.] // Gynecol. Oncol.— 2000.— Vol. 77 № 2.— P. 278–282.
15. Theophylline and cisplatin synergize in down regulation of bcl-2 induction of apoptosis in human granulosa cells / Y. Yoshida, K. Hosokawa, A. Dantes [et al.] // Int. J. Oncol.— 2000.— Vol. 17, № 2.— P. 227–235.
16. Garzetti G. Vascular endothelial growth factor expression as a prognostic index in serous ovarian cystoadenocarcinomas: relationship with MIB 1 Immunostaining / G. Garzetti, A. Ciavattini, G. Lucarnini // Gynecol. Oncol.— 1999.— Vol. 73, № 3.— P. 396–401.
17. Clinical implications of expression of vascular endothelial growth factor in metastatic lesions cancers / J. Fujimoto, H. Sakaguchi, I. Aoki [et al.] // Br. J. Cancer.— 2001.— Vol. 85, №3.— P. 313–316.
18. Михановский А. А. Анализ эффективности комбинированного лечения с неoadьювантной химиотерапией у больных раком яичников / А. А. Михановский, Е. Н. Сухина // Междунар. мед. журн.— 2014.— Т. 20, №2.— С. 80–87.
19. Карташов С. М. Епідеміологія та діагностика раку яєчників: метод. рек. / С. М. Карташов, О. О. Акуліна, Т. В. Скрицька.— К., 2008.— 25 с.

#### ПЕРСПЕКТИВИ ВИКОРИСТАННЯ МОЛЕКУЛЯРНИХ МАРКЕРІВ ПРИ РАКУ ЯЄЧНИКІВ

О. А. МИХАНОВСКИЙ, Ю. В. ХАРЧЕНКО, О. В. ДОЛГАЯ, И. М. КРУГОВА,  
Н. В. ФЕДОРЕНКО, Н. М. ШЧИТ, М. А. ТЕПЛОВА

Подано результати досліджень молекулярно-біологічних маркерів p53, Bcl2, Ki-67, VEGF, вивчення яких дає цінну інформацію про розвиток раку яєчників, агресивність його перебігу й ефективність лікувальної терапії.

Ключові слова: рак яєчників, молекулярно-біологічні маркери, апоптоз, проліферація, ангиогенез.

#### PROSPECTS OF THE USE OF MOLECULAR MARKERS IN CANCER OF OVARIES

О. А. МИХАНОВСКИЙ, Ю. В. ХАРЧЕНКО, О. В. ДОЛГАЯ, И. М. КРУГОВА,  
Н. В. ФЕДОРЕНКО, Н. М. ШЧИТ, М. А. ТЕПЛОВА

**The findings of investigation of molecular-biological markers p53, Bcl2, Ki-67, VEGF are presented. Their investigation gives valuable information about development of cancer of ovaries, aggressiveness of its course and efficiency of the medicinal therapy.**

*Key words: cancer of ovaries, molecular-biological markers, apoptosis, proliferation, angiogenesis.*

Поступила 22.09.2015

---